

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19)世界知的所有権機関  
国際事務局



(43)国際公開日  
2002年5月30日 (30.05.2002)

PCT

(10)国際公開番号  
WO 02/41912 A1

(51)国際特許分類: A61K 38/40, 38/43, 38/46, 38/55, 39/395, 9/14, 9/16, 9/30, 9/34, 9/36, 9/32, 9/48, 47/42, 47/38, 47/32, 47/46, A61P 29/00, 1/00, 3/04, 9/12, 35/00, 31/12, 31/04, 37/06, 3/10

(71)出願人(米国を除く全ての指定国について): 株式会社 核内受容体研究所 (NUCLEAR RECEPTOR RESEARCH LIMITED) [JP/JP]; 〒213-0033 神奈川県川崎市高津区下作延1877番地26 Kanagawa (JP).

(21)国際出願番号: PCT/JP01/10212

(22)国際出願日: 2001年11月22日 (22.11.2001)

(25)国際出願の言語: 日本語

(26)国際公開の言語: 日本語

(30)優先権データ:  
特願2000-357573  
2000年11月24日 (24.11.2000) JP

(72)発明者; および  
(75)発明者/出願人(米国についてのみ): 安藤邦雄 (ANDO, Kunio) [JP/JP]; 〒213-0033 神奈川県川崎市高津区下作延1877番地26 Kanagawa (JP). 鈴木清吉 (SUZUKI, Seikichi) [JP/JP]; 〒215-0000 神奈川県川崎市麻生区4-20-3 Kanagawa (JP). 福田昭男 (FUKUDA, Akio) [JP/JP]; 〒153-0061 東京都目黒区中目黒3-12-16 Tokyo (JP). 川合樹里 (KAWAI, Juri) [JP/JP]; 〒102-0074 東京都千代田区九段南4-2-9-407 Tokyo (JP). 小笠原利近 (OGASAWARA, Toshichika) [JP/JP]. 井草一夫 (IGUSA, Kazuo) [JP/JP]; 〒431-2103 静岡県浜松市新都田1-2-2 Shizuoka (JP).

[競業有]

(54)Title: DRUGS AND FOODS IMPROVING THE QUALITY OF LIFE AND PROCESS FOR PRODUCING THE SAME

(54)発明の名称: 生活の質を改善する医薬および食品ならびにその製造方法

(57)Abstract: Drugs and foods processed so as to effectively exert physiological activities, in case of orally administering physiologically active protein(s). Compositions for oral administration which contain one or more physiologically active proteins as the active ingredient and provided with a release-controlling means. Use of these compositions makes it possible to deliver at least 10% of the active ingredient to the lower digestive tract while sustaining the physiological activities. Since the physiologically active proteins are not digested in the stomach but delivered to the small intestine, it becomes possible to exert an effect which has been unknown so far or to ensure the achievement of an effect. Preferable examples of the physiologically active proteins contained in these compositions include lactoferrin, immunoglobulin, lysozyme, amylase, protease, lipase and digestive enzyme inhibitors.

(57)要約:

本発明は生理活性を呈するタンパク質を経口投与する場合、効果的に生理活性を発揮させる方法を施した医薬および食品に関する。

本発明の経口用組成物は、生理活性を有するタンパク質の一種以上を活性成分として含んでおり、放出制御手段を有する。本発明の組成物により、活性成分の少なくとも 10% 以上が活性維持したまま、下部消化管内に送達する。生理活性を有するタンパク質が胃で分解されずに小腸に送達されることにより、これまで未知だった作用が発揮されたり、作用が確実に発揮される。本発明の組成物に含まれる生理活性タンパク質は、好ましくはラクトフェリン、免疫グロブリン、リソチーム、アミラーゼ、プロテアーゼ、リバーゼ、または消化酵素阻害剤である。

WO 02/41912 A1



(74) 代理人: 杉本一夫, 外(SHAMOTO, Ichio et al.); 〒100-0004 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区 ユアサハラ法律特許事務所 Tokyo (JP).

(81) 指定国(国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) 指定国(広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

## 明 細 書

## 生活の質を改善する医薬および食品ならびにその製造方法

5 技術分野

本発明は生理活性を呈するタンパク質を経口投与する場合、効果的に生理活性を発揮させる方法を施した医薬および食品に関する。すなわち、本発明は、経口投与された生理活性を呈するタンパク質が失活せずに胃を通過し、生理活性を喪失せずに作用部位である十二指腸から下部消化管に到達するような医薬および食品に関する。さらに、本発明は、このような医薬または食品が新たに治療／予防を可能にした疾病に関する。本発明の方法は、生理活性タンパク質が分解されずに作用部位に到達するので、作用を発揮させるうえできわめて有効である。

背景技術

15 食物の消化吸収をつかさどる小腸粘膜は、壁面が微細な突起で埋め尽くされ、さらに各々の突起はいっそう微細な突起により被覆される構造であり、それによって表面積を著しく拡大している。一説によるとヒト消化管の表面積は、テニスコートの一面半もあると言われ、その面積の大半は小腸が占めている。腸管の内腔は生体にとって外界であり、150兆個と言われる腸内細菌が生息している。これほど広い面積で外界と接触しているが、外界とのあいだを仕切っているのは、ごく薄い一層からなる粘膜層のみである。この薄い粘膜層は外界から加えられる種々の刺激に対し、反応していると考えられるが、どのような刺激物質が粘膜と接触すると、どのように反応するのか、刺激を受け取る粘膜上の部位はどこなのか等々、具体的なことはほとんどわからず謎は尽きない。いずれにしても消化管粘膜は、生体にとってきわめて重要な機能を担っていることは確かである。

腸管粘膜が刺激に反応していることを示す好例は、腸内細菌の侵入を防御する粘膜バリアーとしてのたらきである。すなわち、動物は健常である限り、腸内細菌がバリアーを越えて侵入することはまれだが、外科手術、外傷、火傷などの

ストレス負荷時、あるいは死亡すると腸内細菌は直ちに粘膜層を越えて体内への侵入し始める。すなわち、健常状態では、絶えず侵入しようとする腸内細菌を防ぐ何らかの防御装置が作動しているはずである。腸内細菌の他にも腸管粘膜を刺激するのは、ウイルス、食物に含まれる毒物等が考えられる。広い面積をもつ腸管粘膜には、刺激を受け取るセンサーとセンサーの情報を基に反応する反応器等が存在するはずだが、どのようなセンサーがはたらいているのかもほとんどわかっていない。例えば、ラクトフェリンは腸管粘膜に受容体が存在することがわかっているが、受容体に結合するとどのような反応が起こるのかについては、まったくわかっていない。

10

胃は塩酸を分泌して内部が pH1. 0~3. 0 の強酸性に保たれている。胃が強酸性に維持されていることは、病原性細菌で汚染された食品あるいは飲料水を摂取した際、汚染した病原菌の殺菌にとって非常に効果的である。さらに胃液は酸性に至適 pH を持つ酸性プロテアーゼ、ペプシンを含み、タンパク質をペプチドに加水分解する。食物を汚染している病原菌のほとんどは、強い酸性条件下にペプシン作用にさらされることにより死滅すると考えてよい。つまり、胃は病原菌の侵入を撃退する第一の閑門である。都合が悪いことに生理活性を呈するタンパク質を経口的に摂取し、作用の発揮を期待する場合、胃における分解が最大の障壁になる。胃に流入した生理活性タンパクは、強酸性の条件下で折り畳まれた三次元構造が崩れ、ペプシンによってペプチドに加水分解されるからである。このような状態ではタンパク質が持っている生理活性は完全に失われると考えてよい。

### 発明の開示

25 食物の消化吸収を補助するため、乳糖分解酵素、アミラーゼ、プロテアーゼあるいはリパーゼなどの加水分解酵素が経口的に投与されている。しかし、これらの加水分解酵素がヒトの体内で本当に食物を加水分解し、消化吸収を助けているかどうかは疑わしい。これらの消化酵素を 50 μg/ml のペプシンを含む pH1. 2 の人工胃液に 1% の濃度で溶かし、37°C で 1. 5 時間インキュベートすると酵素

活性は完全に失われるからである。胃に食物が滞留する時間は、ほぼ 1. 5~2. 0 時間と見積もることができるので、加水分解酵素を内服しても、病態改善効果を期待できないことは明らかである。

5 また、抗炎症作用を呈するセラチオペプチダーゼ、血清コレステロールを低下させると言われるエラスターーゼ等の生理活性タンパク質も、薬物として患者に経口投与されている。これらの生理活性タンパク質も胃内で溶解した場合には、加水分解酵素と同様に分解され、失活することは明らかである。

10 また、卵白リゾチームはほとんどの大衆向け総合感冒薬に有効成分の一つとして添加され、風邪薬の定番とも云えるポピュラーな成分である。リゾチームは涙、唾液、消化液など粘膜を被覆する分泌液に含まれ、細菌の細胞壁を構成するムラミルペプタイドを加水分解する酵素活性を持っているので、殺菌酵素と考えられていた。しかし、不思議なことに風邪の患者に経口投与すると、喉の痛みなどの  
15 急性炎症に対し、鎮痛消炎作用を発揮すると言われている。当然、リゾチームと結合する受容体が粘膜表面に存在し、リゾチームが結合すると生体内麻薬であるオピオイドが放出されるメカニズムが推定されるが、実験的には証明されていない。その鎮痛消炎作用に加え、哺乳動物に対しまったく毒性を示さないので、安心して添加できることが風邪薬の有効成分として普及した原因であろう。リゾチームが鎮痛消炎作用を発揮する場合は、粘膜面積の大部分を占める小腸と考えられるが、この点を含め今後の検討が必要である。この場合にも、感冒薬の錠剤が胃内で崩壊すると、リゾチームもペプシンによる加水分解作用から免れることはできない。ペプシンによる加水分解を免れ、小腸に流入するリゾチームはごく僅かと推定される。

20

25

その他、免疫グロブリン、ラクトフェリン等の比較的大きなタンパク質も健康を増進させるため、食品として積極的に摂取されている。前者は乳牛を複数の細菌抗原で免役し、細菌抗原に対する抗体 (IgG1) を牛乳中に泌乳させ、脱脂した脱脂免疫牛乳粉末が健康増進に有用であるとして称揚されている。しかし、牛

乳中の免疫グロブリン IgG1 はペプシン感受性であり、胃を通過する際に大部分が分解されるので、健康増進効果が期待できるかどうか疑問である。

また、乳牛が分娩 1 週間以内に泌乳する乳は、初乳として搾乳を禁止されて  
5 いる。初乳は分娩 1 週間以降の乳牛が泌乳する常乳と質的に異なり、多量の免疫グロブリン IgG1 を含んでいるのでパスツリゼーションあるいは高温瞬間滅菌すると豆腐状に凝固し、殺菌できないからである。この初乳を脱脂し、免疫グロブリンの失活を避けるため低温で噴霧乾燥した脱脂初乳粉末も、一部の国々で健康増進の素材として普及し始めている。例えば、米国では脱脂初乳粉末は、関節  
10 炎および高血圧症の改善効果をうたい文句とする健康食品として販売されている。  
この場合にも免疫牛乳と同じく、大部分の免疫グロブリンは胃内で分解される。

近年、牛乳由来のラクトフェリンも大腸ガンの発ガン予防効果が報告され、発  
15 ガンを予防するための素材として注目を浴びている。さらに、C 型肝炎患者に牛  
乳のラクトフェリンを大量に経口投与すると、血中のウイルス・タイターが低い  
軽症患者では、病態の改善が認められるとする研究成果が報告された。C 型肝炎  
患者の 80% は、肝硬変から肝臓ガンに移行して死亡するだけに、この研究成果  
が他の医療施設でも確認されれば、患者にとって大きな福音となるに違いない。  
その一方で、投与量が一日あたり 3. 6g と多いことが、実用化を阻む障害にな  
20 っている。投与量を減らし、一日あたり 1. 8g では有意な病態の改善は認められてい  
ない。この場合でも、経口投与されたラクトフェリンの大部分は、胃内で  
加水分解されていることは確かである。胃内で加水分解されず、十二指腸に流入  
して始めてラクトフェリンを放出する製剤で臨床試験を行い、投与量の低減をは  
かると同時に、重症の C 型肝炎患者でも病態改善が認められるよう製剤の改良  
25 を図るべきであろう。

消化管の全表面積はテニスコートの 1. 5 面分であるが、胃の表面積は、僅かに  $900\text{cm}^2$  にすぎない。しかも、胃では栄養物および薬物などの吸収は起こらないし、リゾチーム、免疫グロブリンないしラクトフェリンのような生理活性タン

5 パクが、胃壁に結合することにより病態を改善することは報告されていない。さらに、胃壁は分厚い粘液層で被覆されているので、これらの生理活性タンパク質がペプシンにより加水分解される以前に粘液層を通過し、粘膜に結合することは望み薄である。生理活性を呈するタンパク質を経口的に摂取し薬効を発揮させる場合、最大の障害は胃における分解と不活化であり、その解決なしに、健康増進の目的とする医薬品ないし食品として生理活性タンパク質の実用化はあり得ない。

10 本発明者等は長年にわたり酵素、タンパク質酵素阻害剤および生理活性タンパク質を病態改善ならびに健康増進のため経口投与する研究を行ってきた。タンパク質はリシンのような例外もあるが、概して安全性が高く、経口投与で薬効が発現すれば理想的な治療薬になりうるからである。検討の対象としたのは主としてラクトフェリンならびに免疫グロブリンである。ラクトフェリンは分子量が 8 万程度の高分子だが、粘膜と接触すると生体に変化を起こさせるらしい。一つは病原菌感染に対する防御能を高めることであり、今一つはオピオイドのような鎮痛作用である。このような作用からみて、粘膜上にはラクトフェリン・センサーとも名付けるべき構造が存在するものと思われるが、その詳細についてはほとんどわかっていない。

20 しかし、これらのタンパク質を実験動物に経口投与して生理活性の発現を見る場合、同じ量を同じ条件の動物に投与しても作用が発現する場合としない場合があり、著しく再現性に欠ける。例えば、BALB/c マウスに 5-フルオロウラシル (5-FU) を 50mg/kg 経口投与し、bacterial translocation (BT) から菌血症を惹起させ、多臓器不全によりマウスが死亡する実験系で、5-FU を投与する 1 日前～同時に牛乳由来のラクトフェリンを経口投与すると、ある場合には BT を阻止しマウスを生存させることができる。しかも、この BT 阻止作用はラクトフェリンを 1 回 2mg/kg という少量投与しただけで統計的に高度な有意差を持って発現した。2mg/kg の経口投与でマウスの抗ガン剤投与による BT が抑制できるのであれば、外科手術、ガン、ストレスなどで惹起するヒトの BT を抑制し、感染症から全身性炎症反応症候群による多臓器不全を阻止できて、医療に多大のイン

パクトを与えることができる。

一方で、まったく同じ条件で 100mg/kg 経口投与しても発現しないこともある。この表現は但し書き付きで真実である。なぜかと言えば、まったく同じ条件であると本発明者等は考えていただけで、実際には条件が異なるから同じ現象が発現しなかっただけだからである。ラクトフェリンの BT 阻止効果が再現性に乏しい原因を突き詰めて行くと、消化管におけるラクトフェリンの分解に行き当たった。つまり、生理活性タンパク質は、作用部位にその構造が完全に保持して到達してこそ生理作用を発揮するのであり、作用部位に到達する以前に分解しては作用を 10 発揮できないという結論にたどり着くことができた。

すなわち、ラクトフェリンなどの生理活性タンパク質は経口投与すると、その大部分は胃を通過する際に部分的に分解され作用を喪失するのである。これらの生理活性タンパク質を経口投与して偶然に作用を発揮する場合があるとすれば、15 胃を通過する際分解を免れたごく少量が十二指腸に流下し作用を発揮するのである。したがって、本発明者らは、生理活性タンパク質を病態改善ならびに健康増進のため経口投与する場合、分解の原因となる胃を分解することなく通過し、十二指腸に流入して始めて溶解する方法を求めて検討を行った。

## 20 発明の詳細な説明

従来の製剤では、経口的に投与したラクトフェリンは、一過性に口腔と食道の粘膜に接触するだけで、胃に流入するとペプシンによってポリペプタイドに分解され、効力が失われるものと思われる。この酸性プロテアーゼに対する高い感受性が、従来ラクトフェリンが広く応用されることを阻んでいた。ラクトフェリン 25 は、牛乳中の微量成分であり、比較的高価である。ペプシンおよびパパインの様な酸性プロテアーゼに感受性が高く、容易に加水分解されることが最大の弱点であった。しかし、その他のプロテアーゼに対しては著しく抵抗性で、糞便中に 1 週間放置してほとんど分解しないことがわかった（本明細書の実施例 4 参照）。したがって、分解せずに胃を通過し、十二指腸に流入させることができれば、少

量の経口投与で病態改善および健康増進作用を発揮させることができると推定し、本発明を完成するに至った。

すなわち、本発明は、生理活性を有するタンパク質の一種以上を活性成分として含み、その活性成分の一定以上がほとんど分解されずに活性を維持したまま下部消化管内に放出されるための放出制御手段を有する経口用組成物を提供する。

本明細書で「経口用組成物」というときは、経口的に摂取されるあらゆる形態の医薬組成物および／または食品を含む。本発明の医薬組成物は、錠剤、カプセル剤、丸剤、顆粒剤、散剤の種々の医薬製剤の形態とすることができる。また、食品には、機能性食品、健康食品および栄養補助食品が含まれる。

本発明の組成物は、放出制御手段を有することが必要である。ここでいう放出制御手段は、組成物中の活性成分のうち、少なくとも 10% 以上、好ましくは 20% 以上、より好ましくは 50% 以上、さらに好ましくは 80% 以上を、胃腸内では不可逆的に失活しないように保ち（例えば、有効成分を胃腸内では放出せず、または溶解させず、したがって変性および／または分解させない）、活性を維持させたまま下部消化管（十二指腸、小腸）に到達させるための手段である。

本発明の組成物のための放出制御手段としては、従来の、薬物放出制御のための種々の手法を適用することができる。このような手法には、例えば、活性成分を含む母核を腸溶性皮膜でまたは適切な厚さの疎水性物質からなる皮膜で被覆すること、活性成分をマトリクスに担持させて所定の環境下で有効成分を放出させること、が含まれる。

25

本発明は、胃腸内で変性および／または分解され、失活しうる、あらゆるタンパク質性の活性成分に適用することができる。このような活性成分には、酸性プロテアーゼ、すなわち、ペプシンおよびパパインで失活する生理活性を有するタンパク質が含まれる。より具体的には、免疫賦活作用および鎮痛消炎作用を示す

ラクトフェリンおよびリゾチームなどの塩基性タンパク質、病原菌の生育を阻害する免疫グロブリン、小腸で食物の消化吸収を助けるための加水分解酵素、それら加水分解酵素の活性を阻害するタンパク質性のまたはペプチド性の阻害剤が含まれる。食物の消化吸収を助ける加水分解酵素としては、各種プロテアーゼ、アミラーゼおよびリパーゼ等があげられる。特に好ましい活性成分は、ラクトフェリンである。ラクトフェリンは、これまで治療が難しかった種々の疾患に対し即効性の治療効果を与える（本明細書の実施例中の、治療効果の項参照）。

また、本発明は、全身性炎症反応症候群；炎症性腸疾患；肥満、糖尿病または高血圧症を含む生活習慣病；悪性腫瘍：C型肝炎ウイルス、ロタウイルス、ヘルペスウイルスまたはサイトメガロウイルスを含む病原ウイルスによる感染症；病原性微生物による感染症；自己免疫疾患の治療のため、ならびに／またはこれらの疾患または状態に伴う、患者の生活の質を低減させるような種々の症状の治療または改善のために適用することができる。

15

全身性炎症反応症候群は、種々様々な疾患患者におきる広汎な炎症であって、感染症、肺炎、虚血、多重外傷、出血性ショック、免疫介在性臓器損傷、および敗血症、ならびに全身性炎症反応症候群にしばしばおこる合併症（急性肺損傷；ショック；腎不全；および多臓器不全症候群、および器官系機能異常の発生）を含む。炎症性腸疾患は、クローン病および潰瘍性大腸炎を含む。

#### 発明を実施するための形態

本発明の実施態様の一つは、ラクトフェリン顆粒ないしは錠剤の表面を胃では溶解せず、腸に流入して溶解する腸溶性の皮膜で被覆した組成物である。より詳細には、次のようなものである。

牛乳由来ラクトフェリン凍結乾燥粉末は、かさ比重が非常に小さく、直接錠剤に打錠することは困難である。また、水分と高温で不安定なので、乾燥状態で製剤化することが望ましい。したがって、ラクトフェリンと賦形剤、結合剤、崩壊

剤を混合し、混合物をスラグマシンで強圧成型し薄い大きな平たい円盤をつくり、それを碎いて篩過し、一定の大きさの顆粒をそろえる。この顆粒を腸溶性皮膜で覆い、一定量をハードカプセルに充填して製品化することができる。錠剤として製品化する場合には、顆粒に滑沢剤を加えて打錠し、錠剤を腸溶性皮膜で覆って5 製品化することができる。

10 このようにして製造したラクトフェリンの腸溶性錠剤および腸溶性顆粒は、塩化ナトリウム 2.0g に希塩酸 24ml および水を加えて溶かし、1000ml とした第一液 (pH1.2) 、および 0.2M リン酸 2 水素カリウム試液 250ml に 0.2N 水酸化ナトリウム試液 118ml および水を加えて 1000ml とした第二液 (pH6.8) を用いて崩壊性を試験した（日本薬局方（九改正）, 一般試験法 41; または日本薬局方（十三改正）一般試験法 47, 崩壊試験法, (6) 腸溶性の製剤、参照）。本発明の方法で製造した錠剤ないし顆粒は、第一液に 120 分間浸しても崩壊せず、第二液中では 60 分間浸すと崩壊する。つまり、胃で崩壊して溶解せず、十二指腸に流入して始めて崩壊し、ラクトフェリンが溶出される製剤を完成させることができる。

20 本発明の腸溶性製剤を製造する際に用いる賦形剤としては、乳糖、蔗糖、グルコースなどの単糖ないし二糖類、コーンスターク、ポテトスタークのような澱粉類、結晶セルロース、無機物としては軽質シリカゲル、合成珪酸アルミニウム、メタ珪酸アルミン酸マグネシウム、リン酸水素カルシウムなどがある。また、結合剤としては澱粉類、カルボキシメチルセルロース (CMC) 、ヒドロキシプロピルセルロース (HPC) 、カルボキシメチルセルロース・ナトリウム塩、ポリビニルピロリドン等がある。また、下部消化管でもとの一次粒子にまで崩壊させることを目的として用いる崩壊剤としては、澱粉、カルボキシメチルセルロース-ナトリウム塩、カルボキシメチルセルロース-カルシウム塩、クロスカルメロースナトリウム、カルボキシメチルスターチナトリウムなどがある。錠剤ならびに顆粒を腸溶性に被覆するための皮膜剤としては、pH5~6 で溶解するヒドロキシプロピルメチルセルロース・フタレート、カルボキシメチルエチルセルロース、

酢酸フタル酸セルロース、メタクリル酸コポリマーや、アルカリ性領域で溶解するシェラックなどがある。

本発明の組成物は、一般的には、活性成分として 1 日あたり、約 0. 1mg～約 5 100, 000mg、好ましくは約 1mg～約 50, 000mg、より好ましくは約 10mg～約 10, 000mg を一度にまたは分割して、本発明の組成物による治療または状態の改善が必要とされている患者に投与することができる。投与量は、個別に、投与される患者の年齢、体重、および投与目的に応じて定めることができる。

## 10 実施例

### <実施例 1（幽門部結紮ラット使用の実験；その 1）>

一夜絶食した体重約 300 グラムのウイスター系雄性ラット 6 頭をエーテル麻酔下に幽門の上部にあたる腹部を小さく切開し、胃内容物が十二指腸に流下しないよう幽門と十二指腸の接合部を手術糸で軽く結紮してから手早く切開部を縫合した。ラットが麻酔から覚醒して 1 時間後、牛乳から抽出したラクトフェリンおよび免疫グロブリン（タツア・ミルク・バイオロジクス社製造、それぞれ純度約 90% および 75%）各々 50mg を 5ml の蒸留水に溶解して経口投与した。ラットはラクトフェリン投与 15 分、30 分および 1 時間後に 2 頭ずつ屠殺して、胃内容物を 300ml のビーカーに洗い出し、さらに胃壁を生理食塩水によって充分に洗浄した。胃内容物と洗浄液を合一し、液量を正確に 200ml として被検液とした。被検液に溶解しているラクトフェリンおよび免疫グロブリン IgG1 は、高速液体クロマトグラフィーによって定量した。

結果は表に示すように残存するラクトフェリンは、投与 15 分後で 4. 6%、30 25 分で痕跡程度、60 分で 0 であった。

表1. 胃内での生理活性タンパク質の加水分解

経過時間 (min)	ラクトフェリン (mg/stomach)	IgG1 (stomach)
15	2.1 (4.6%)	3.1 (8.3%)
30	痕跡程度	痕跡程度
60	0	0

( ) 内は、投与量に対する残存量割合

## &lt;実施例2(幽門部結紮ラット使用の実験；その2)&gt;

5 一夜絶食した体重約250グラムのウイスター系雄性ラット6頭をエーテル麻酔下に幽門の上部にあたる腹部を小さく切開し、幽門と十二指腸の接合部を手術糸で軽く結紮し、手早く切開部を縫合した。ラットが麻酔から覚醒し1時間後に牛乳から抽出したラクトフェリンならびに免疫グロブリンIgG1(タツア・ミルク・バイオロジクス社製造)各々100mgと5mgのペプスタチン(ペプシン阻害剤)を5mlの生理食塩水に溶解して経口投与した。ラットはラクトフェリン投与15分、30分および1時間後に2頭ずつ屠殺して、実施例1に示す要領で胃内容物を洗い出し、液量を正確に200mlとして、溶解しているラクトフェリンを高速液体クロマトグラフィーによって定量した。

15 結果は表に示すように残存するラクトフェリンは、投与15分後で53%、30分で23%、60分で10%であった。実施例1と比べると、ラクトフェリンの残存量は明らかに多く、胃内におけるその分解にかかわっているのがペプシンであることは明らかである。

表2. ペプシン阻害剤存在下の胃内での生理活性タンパク質の加水分解

経過時間 (min)	ラクトフェリン (mg/stomach)	IgG1 (stomach)
15	47.7 (53%)	15.7 (20.9%)
30	20.7 (23%)	8.3 (11.1%)
60	0.9 (10%)	11.0 (14.7%)

20 ( ) 内は、投与量に対する残存量割合

## &lt;実施例 3&gt;

飼料および水を自由摂取した体重約 300 グラムのウイスター系雄性ラット 6 頭の腹部をエーテル麻酔下に小さく切開し、幽門部と盲腸の上部で回腸部を結紩し、小腸ループを作成した。次に牛乳ラクトフェリンおよび免疫グロブリン IgG1 (タツア・ミルク・バイオロジクス社製造、純度約 90%) の各々 100mg を 5ml の生理食塩水に溶解し、注射筒を用いて小腸ループに注入した。腹部の切開部を手早く縫合してから、ラットをケージに戻し、30、60 および 120 分後にループを摘出し、内容物をピーカーに移し、腸管壁を生理食塩水で洗浄して内容物を合一して被検液とした。高速液体クロマトグラフィーにより被検液に含まれるラクトフェリンを定量して、表に示す値が得られた。

表3. 小腸内での生理活性タンパク質の分解

経過時間 (min)	ラクトフェリン (mg/stomach)	IgG1 (stomach)
15	83 (92%)	47 (63%)
30	89 (99%)	22 (29%)
60	80 (89%)	7 (9%)

( ) 内は、投与量に対する残存量割合

表 3 からわかるようにラクトフェリンは小腸内でまったく分解されない。しかし、免疫グロブリン IgG1 は半減期約 30 分で徐々に分解される。

15

## &lt;実施例 4&gt;

ウイスター系雄ラットの新鮮な糞便 10g を 50ml の蒸留水に加え、ポリトロン・ホモジナイザーを用いてホモジナイズした。ホモジエネイト 10ml に牛乳由来ラクトフェリンおよび免疫グロブリン IgG1 を各々 100mg 加えて溶かし、37°C の窒素置換嫌気ジャー中で 24、72 および 168 時間インキュベートした後、溶解しているラクトフェリンおよび免疫グロブリンを高速液体クロマトグラフィーによって測定した。

結果は表 4 に示すようにラクトフェリンは糞便と 1 週間インキュベートしてもほとんど分解されないが、免疫グロブリンは 72 時間インキュベートすると完

全に消失した。従って、免疫グロブリン IgG1 は腸内細菌によって加水分解を受けるが、ラクトフェリンは腸内細菌が產生するプロテアーゼに対し著しく抵抗性であることがわかる。

表4. 腸内細菌による生理活性タンパク質の分解

経過時間 (min)	ラクトフェリン (mg/stomach)	IgG1 (stomach)
15	72 (80%)	13 (17%)
30	70 (78%)	0 (0%)
60	76 (84%)	0 (0%)

5

( ) 内は、投与量に対する残存量割合

#### <実施例 5>

pH3.0 以下の酸性では溶解せず、中性ないし弱アルカリ性で溶解するヒドロキシアルキルセルロース（信越化学工業製、商品名 HP-55）を成型加工して製造した日本薬局方 1 号の腸溶性ハードカプセルに、ラクトフェリン 10 部とカルボキシメチルセルロースカルシウム 5 部の微粒状物（両者を、水を加えずに乾燥状態で混合し、乾燥状態のままスラグマシンで強圧成型して薄い大きな平たい円盤を作り、それを碎き、16 メッシュのふるいを通して粒径 0.1mm 程度の大きさの顆粒としたもの）150mg 充填し、嵌合部を腸溶性基材でシールして腸溶性のラクトフェリン・ハードカプセル製剤を製造した。

#### <実施例 6>

免疫グロブリン 8%を含むウシの脱脂初乳 10 部を微結晶セルロース 10 部と混合し、実施例 5 と同様の方法で微粒状物としたものを、実施例 5 のハードカプセルに 150mg を充填し、嵌合部を腸溶性基材でシールして腸溶性脱脂初乳製剤を製造した。

#### <実施例 7>

ラクトフェリン 50mg を含む直径 8mm の錠剤を、ラクトフェリン粉末および 25 乳糖、セルロース、カルボキシメチルセルロース・カルシウム塩を、水を加えず

に乾燥状態で混合し、混合物を乾燥状態のまま、スラグマシンで強圧成型して薄い大きな平たい円盤を作り、それを砕き、16 メッシュのふるいを通して一定の大きさの顆粒とし、これにショ糖脂肪酸エステルを加えて打鍛することにより得た。ゼラチン 10 部とリボ核酸ナトリウム 20 部に水を加えて加温溶解して製造した厚さ 0.7mm の膜を用い、平板法により外被を形成させた後、乾燥して腸溶性製剤を製造した。

<実施例 8>

コーティング機（フロイント産業（株）製、ハイコーテーHCT-48N）に、実施例 7 の外被形成前の、ラクトフェリン 50mg を含有する直径 8mm、重量 180mg の錠剤をいれ、カルボキシメチルエチルセルロース 9%、グリセリン脂肪酸エステル 1%、エタノール 45%、塩化メチレン 45%よりなる腸溶性コーティング液を噴霧し、対錠剤重量比で 12%の腸溶性コーティングを施して製品とした。

15 <実施例 9>

コーティング機（フロイント産業（株）製、HC-MINI）に、実施例 7 の外被形成前の、ラクトフェリン 50mg を含有する直径 8mm、重量 180mg の錠剤をいれ、トウモロコシ穀粒から得られるタンパク質、ツエイン 8 部、グリセリン 2 部を 70%エタノール 150 部に溶解した液を計算量だけ噴霧し、対錠剤重量比で 20 10%のコーティングを施した錠剤を得た。

<実施例 10>

コーティング機（フロイント産業（株）製、HC-MINI）に、実施例 7 の外被形成前の、ラクトフェリン 50mg を含有する直径 8mm、重量 180mg の錠剤をいれ、セラック 30 部、ヒマシ油 7 部をイソプロパノール 63 部に溶解した液を計算量だけ噴霧し、対錠剤重量比で 10%のコーティングを施した錠剤を製造した。

<治療効果>

このようにして製造した腸溶性組成物の効果は驚くべきものがある。例えば、ラクトフェリン腸溶性製剤は、これまで治療が難しかった種々の疾患に対し即効性の治療効果を示した。

5 (1) 輸血を通じて C 型肝炎に感染すると、急性肝炎を発症した後、慢性肝炎から肝硬変に移行し、最終的には肝臓ガンを発症して患者は死亡する。C 型肝炎患者が肝臓ガンを発症する割合は高率で、約 80% に達すると言われている。C 型肝炎が進行し、肝臓ガンを発症して腹水が貯留している入院患者にラクトフェリンの腸溶剤（上述の実施例 8 または 9 で製造されたもの）を内服させ、治療 10 した効果は信じられないほど劇的であった。すなわち、一日あたり 0. 9g のラクトフェリンを内服しただけで、3 日後には腹水が吸収されて消失し、黄疸の改善、C 型肝炎ウイルスの血中マーカーが大幅に低下したのである。主治医から余命が数ヶ月と宣告されていたこの患者は、内服を始めて 1 週間後には歩いて退院することができたのである。

15

(2) また、悪性リンパ腫を発症したある医師は、化学療法でガンを押さえ込んでいたが、それに伴う副作用の多発に悩まされ寝たり起きたりの生活であった。このような状態から脱却するため、いろいろな薬物を試みたが効果がなく、幾つかの民間療法まで手を伸ばしたが症状の改善はみられなかった。しかし、上述の 20 実施例 8 または 9 で製造されたラクトフェリン腸溶錠（ラクトフェリンとして一日あたり 0. 45g）を内服 2 日後に食欲が出始め、さらに 3 日後には臨床試験の検査値は担当医が驚くほどに改善した。この患者の場合、だるさ、嘔吐、感染症の多発、食欲減退などに悩まされ生活の質が非常に低下した状態にあった。従って、ラクトフェリン腸溶錠の内服により生活の質が改善されたことは明らかで 25 あった。

(3) 胃ガンの手術後に、再発してガン性腹水が貯留した症例にラクトフェリン腸溶錠を内服させた。この症例は苦しさを軽減するため、腹水を数回にわたって抜き取っていた。しかし、上述の実施例 8 または 9 で製造されたラクトフェ

リン腸溶錠（ラクトフェリンとして一日あたり 0. 45g）を内服し始めて 1 週間後に、腹水は完全に吸収されて消失した。この患者は微熱が続き、脈拍が 1 分間に 95 回、呼吸数が 1 分間に 23 回と典型的な全身性炎症反応症候群（systemic inflammatory response syndrome : SIRS）の症状を呈してい  
5 たが、ラクトフェリン腸溶錠の内服を開始して 1 週間後に、これらの症状は消失し、食欲も回復した。

（4）13 年前からアトピー性皮膚炎に罹患し、全身性の搔痒感から夜間の熟睡が難しかった女性患者に、上述の実施例 8 または 9 で製造された腸溶性ラクト  
10 フェリン錠（ラクトフェリンとして一日あたり 0. 45g）を投与した。内服 2 日後からアトピー性皮膚炎による皮膚の発疹が軽減され始め、それとともに搔痒感から解放され熟睡できるようになった。つまり、ラクトフェリンには自己免疫疾患によるストレスから患者を解放する効果が認められる。また、シェーグレン症候群のため唾液の分泌が減少している患者にラクトフェリン腸溶錠を経口投与し  
15 たところ、唾液の pH が上昇すると同時に分泌量が増加し、口腔の乾燥が大きく改善された。従って、ラクトフェリンは自己免疫疾患に伴う生活の質低下を明らかに改善する効果がある。

（5）これまで説明したように生理活性を示すある種のタンパク質は、その作用が発揮される場が十二指腸より下部の消化管である場合が多い。この明細書ではラクトフェリンを中心に説明したが、変化せずに胃を通過し、小腸に流入して始めて溶解すると、これまで未知だった作用を発揮したり、投与量を大幅に減少させることができる生理活性タンパク質はラクトフェリンだけではない。免疫グロブリンおよびリゾチームは、腸溶性製剤化することによりラクトフェリンと類似した効果を示すタンパク質である。また、食物の消化吸収を助けるために経口投与されるアミラーゼ、プロテアーゼ、リパーゼは、作用を発揮する場が小腸なので腸溶性製剤化する必要がある。さらに、注目すべきは、現代人に多い肥満は、生体から分泌される消化酵素の阻害剤を食後に投与すると、栄養素の吸収が減少するので阻止できることである。植物由来のある種のタンパク質は生

体が分泌する消化酵素を阻害することがわかっているので、アミラーゼ、リバーゼ、プロテアーゼの阻害剤を腸溶化して食後に経口投与すると、肥満を防止し、II型糖尿病、高血圧症、動脈硬化などの生活習慣病を明らかに改善する。従つて、本発明は単にラクトフェリンに止まらず、広い範囲の生理活性を呈するタン  
5 パク質に適用可能なのである。

## 請求の範囲

1. 酵素、ラクトフェリン、免疫グロブリン、リゾチーム、アミラーゼ阻害剤、リパーゼ阻害剤、およびプロテアーゼ阻害剤からなる群より選択される生理活性を有するタンパク質の一種以上を活性成分として含む経口用組成物であって、放出制御手段を有し、その活性成分の少なくとも 10%以上が活性を維持したまま下部消化管内に放出される、前記組成物。  
10
2. 活性成分がラクトフェリンである、請求項 1 に記載された経口用組成物。
3. 全身性炎症反応症候群；炎症性腸疾患；肥満、糖尿病または高血圧症を含む生活習慣病；悪性腫瘍；C 型肝炎ウイルス、ロタウイルス、ヘルペスウイルスまたはサイトメガロウイルスを含む病原ウイルスによる感染症；病原性微生物による感染症；および自己免疫疾患；ならびに／またはこれらの疾患または状態に伴う症状の治療または改善のための、請求項 1 または 2 に記載された経口用組成物。  
15
4. 酵素、ラクトフェリン、免疫グロブリン、リゾチーム、アミラーゼ阻害剤、リパーゼ阻害剤、およびプロテアーゼ阻害剤からなる群より選択される生理活性を有するタンパク質の一種以上を活性成分として含む経口用組成物であって、放出制御手段を有し、該放出制御手段が腸溶性皮膜を含むものである、前記経口用組成物。  
20
5. 活性成分がラクトフェリンである、請求項 4 に記載された経口用組成物。  
25
6. 全身性炎症反応症候群；炎症性腸疾患；肥満、糖尿病または高血圧症を含む生活習慣病；悪性腫瘍；C 型肝炎ウイルス、ロタウイルス、ヘルペスウイルスまたはサイトメガロウイルスを含む病原ウイルスによる感染症；病原性微生物による感染症；および自己免疫疾患；ならびに／またはこれらの疾患または状態に

伴う症状の治療または改善のための、請求項 4 または 5 に記載された経口用組成物。

7. 腸溶性皮膜が、シェラック、ツエイン、ヒドロキシプロピルメチルセルロース・フタレート、カルボキシメチルエチルセルロース、酢酸フタル酸セルロース、メタクリル酸コポリマー、水に不溶のエチルセルロースおよびアミノアルキルメタアクリレートコポリマーからなる群より選択される基剤を含む、請求項 4 ~6 のいずれか 1 項に記載された経口用組成物。

10 8. 活性成分がラクトフェリンであり、散剤、顆粒剤、散剤もしくは顆粒の一定量が充填されたカプセル剤または錠剤の形態である、請求項 4 に記載された経口用組成物であって、以下の工程を含む製造方法により得られうる、前記経口用組成物：

ラクトフェリン粉末および医薬として許容される添加剤を乾燥状態で混合し；  
15 所望により、混合物を乾燥状態で強圧成型し、次いで成型物を一定の大きさの微粒状物または顆粒とし；そして  
微粒状物もしくは顆粒を腸溶性皮膜で被覆するか、または混合物、微粒状物もしくは顆粒を打錠し、そして打錠物を腸溶性皮膜で被覆する。

20 9. 以下の工程含む、散剤、顆粒剤、散剤もしくは顆粒の一定量が充填されたカプセル剤または錠剤の形態である、腸溶性経口用組成物の製造方法：

ラクトフェリン粉末および医薬として許容される添加剤を乾燥状態で混合し；  
所望により、混合物を乾燥状態で強圧成型し、次いで成型物を一定の大きさの微粒状物または顆粒とし；そして  
25 微粒状物もしくは顆粒を腸溶性皮膜で被覆するか、または混合物、微粒状物もしくは顆粒を打錠し、そして打錠物を腸溶性皮膜で被覆する。

10. 活性成分がラクトフェリンであり、日本薬局方・一般試験法における腸溶性製剤のための崩壊試験に適合する、請求項 4 に記載された経口用組成物。

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/10212

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl<sup>7</sup> A61K38/40, 38/43, 38/46, 38/55, 39/395, 9/14, 9/16, A61K9/30, 9/34, 9/36, 9/32, 9/48, 47/42, 47/38, 47/32, 47/46, A61P29/00, 1/00, 3/04, 9/12, 35/00, 31/12, 31/04, 37/06, 3/10

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>7</sup> A61K38/00-38/58, 39/395, A61K9/00-9/72, 47/00-47/48

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1926-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2002
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2002	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2002

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAPLUS (STN), MEDLINE (STN), BIOSIS (STN), WPI/L (QUESTEL)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	JP 2001-048808 A (Morinaga Milk Ind. Co., Ltd.), 20 February, 2001 (20.02.2001), column 11, working example 3 (Family: none)	1-10
X Y	WO 00/22909 A2 (Biotech Australia Pty., Limited), 27 April, 2000 (27.04.2000), abstract; Claim 32 & AU 200010712 A	1,2,4,5,10 3,6,8,9
X Y	WO 91/04015 A1 (Bukh Meditec A/S), 04 April, 1991 (04.04.1991), Claim 45; page 27 & JP 5-500668 A & AU 9065051 A & US 5213808 A & EP 493513 B1 & DE 69009769 E & JP 2927950 B2	1,2,4,5,7,10 3,6,8,9

Further documents are listed in the continuation of Box C.  See patent family annex.

"A"	Special categories of cited documents: document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T"	later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"B"	earlier document but published on or after the international filing date	"X"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L"	document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O"	document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&"	document member of the same patent family
"P"	document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		

Date of the actual completion of the international search 31 January, 2002 (31.01.02)	Date of mailing of the international search report 12 February, 2002 (12.02.02)
--	--

Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/10212

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 95/08562 A1 (Anadis, Ltd.), 30 March, 1995 (30.03.1995), Claims 25, 31 & AU 9477338 A & EP 725789 A1 & JP 9-503754 A & NZ 273865 A & US 5780028 A & AU 696379 B & MX 195012 B	1, 3, 4, 6, 7
Y	WO 00/06192 A1 (Morinaga Milk Ind. Co., Ltd.), 10 February, 2000 (10.02.2000), pages 3 to 5 & EP 1116490 A1	3, 6
Y	EP 955058 A1 (Morinaga Milk Ind. Co., Ltd.), 10 November, 1999 (10.11.1999), test; example & WO 98/30235 A1 & KR 2000070051 A & US 6319895 B1	8, 9

## 国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP01/10212

## A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））

Int. C1' A61K38/40, 38/43, 38/46, 38/55, 39/395, 9/14, 9/16,  
 A61K9/30, 9/34, 9/36, 9/32, 9/48, 47/42, 47/38, 47/32, 47/46,  
 A61P29/00, 1/00, 3/04, 9/12, 35/00, 31/12, 31/04, 37/06, 3/10

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC））

Int. C1' A61K38/00-38/58, 39/395,  
 A61K9/00-9/72, 47/00-47/48

## 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1926-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2002年
日本国実用新案登録公報	1996-2002年
日本国登録実用新案公報	1994-2002年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）  
 CAPLUS (STN), MEDLINE (STN), BIOSIS (STN),  
 WPI/L (QUESTEL)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
P, X	JP 2001-048808 A (森永乳業株式会社) 2001.02.20, 第11欄実施例3参照 (ファミリーなし)	1-10
X Y	WO 00/22909 A2 (BIOTECH AUSTRALIA PTY. LIMITED) 2000.04.27, Abstract, Claim32参照 & AU 200010712 A	1, 2, 4, 5, 10 3, 6, 8, 9

 C欄の続きにも文献が列挙されている。 パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

## の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

## 国際調査を完了した日

31.01.02

## 国際調査報告の発送日

12.02.02

## 国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

## 特許庁審査官（権限のある職員）

八原 由美子



4C 3039

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C (続き) 関連すると認められる文献		関連する 請求の範囲の番号
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	
X	WO 91/04015 A1 (BUKH MEDITEC A/S) 1991.04.04,	1, 2, 4, 5, 7, 10
Y	Claim45, P.27参照 & JP 5-500668 A & AU 9065051 A & US 5213808 A & EP 493513 B1 & DE 69009769 E & JP 2927950 B2	3, 6, 8, 9
X	WO 95/08562 A1 (ANADIS LTD.) 1995.03.30, Claims25, 31参照 & AU 9477338 A & EP 725789 A1 & JP 9-503754 A & NZ 273865 A & US 5780028 A & AU 696379 B & MX 195012 B	1, 3, 4, 6, 7
Y	WO 00/06192 A1 (森永乳業株式会社) 2000.02.10, P.3-5参照 & EP 1116490 A1	3, 6
Y	EP 955058 A1 (MORINAGA MILK INDUSTRY CO., LTD.) 1999.11.10, Test, Example参照 & WO 98/30235 A1 & KR 2000070051 A & US 6319895 B1	8, 9